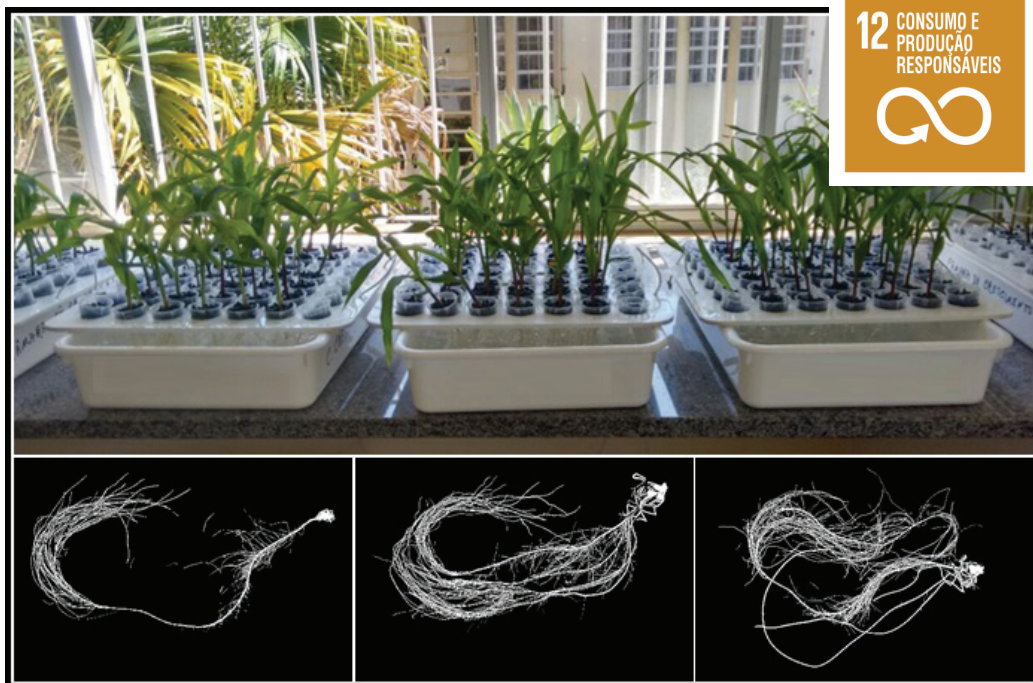


Resposta Diferencial de Genótipos de Milho à Inoculação com Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
203**

**Resposta Diferencial de Genótipos
de Milho à Inoculação com Bactérias
Promotoras do Crescimento de Plantas**

Camila Cristina Vieira Velloso
Chainheny Gomes de Carvalho
Christiane Abreu de Oliveira Paiva
Ubiraci Gomes de Paula Lana
Eliane Aparecida Gomes
Maria Marta Pastina
Lauro José Moreira Guimarães
Sylvia Morais de Sousa Tinoco*

***Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2019***

Esta publicação está disponível no endereço:
<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Maria Marta Pastina

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
*Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria
Borges Damasceno, Maria Lúcia Ferreira
Simeone, Roberto dos Santos Trindade e
Rosângela Lacerda de Castro*

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Mônica Aparecida de Castro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Mônica Aparecida de Castro

Foto da capa
Camila Cristina Vieira Velloso.

1ª edição
Publicação digitalizada (2019)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Resposta diferencial de genótipos de milho à inoculação com bactérias
promotoras do crescimento em plantas / Camila Cristina Vieira Velloso
[et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2019.

27 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e
Sorgo, ISSN 1679-0154; 203).

1. *Zea mays*. 2. Bactéria. 3. Inoculação. 4. Hidroponia. I. Velloso, Camila
Cristina Vieira. II. Carvalho, Chainheny Gomes. III. Paiva, Christiane Abreu
de Oliveira. IV. Lana, Ubiraci Gomes de Paula. V. Gomes, Eliane Aparecida.
VI. Pastina, Maria Marta. VII. Guimarães, Lauro José Moreira. VIII. Tinoco,
Sylvia Moraes de Sousa. IX. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

© Embrapa, 2019

Sumário

Resumo04

Abstract06

Introdução.....07

Material e Métodos08

Resultados e Discussão11

Conclusões.....21

Referências21

Resposta Diferencial de Genótipos de Milho à Inoculação com Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas

Camila Cristina Vieira Velloso¹

Chainheny Gomes de Carvalho²

Christiane Abreu de Oliveira Paiva³

Ubiraci Gomes de Paula Lana⁴

Eliane Aparecida Gomes⁵

Maria Marta Pastina⁶

Lauro Jose Moreira Guimarães⁷

Sylvia Moraes de Sousa Tinoco^{*8}

Resumo – Bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) podem acelerar o desenvolvimento de plantas, e apresentam-se como alternativa promissora e sustentável em diferentes culturas. Entretanto, diversos parâmetros podem influenciar a interação planta-microrganismo, especialmente as cepas bacterianas e os genótipos utilizados. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de duas cepas de *Bacillus*, isoladas de linhagens de milho eficientes no uso de fósforo, em diferentes genótipos de milho. Vinte genótipos de milho pertencentes ao Programa de Melhoramento da Embrapa de Milho e Sorgo e um genótipo comercial foram inoculados separadamente com duas cepas do gênero *Bacillus* (B116 e B119) e cultivados em condições de hidroponia. Dez dias após a inoculação, várias características radiculares e de peso seco foram avaliadas. Dos 21 genótipos de milho inoculados com as cepas B116 e B119, dezesseis apresentaram aumento no peso seco e modificações na morfologia das raízes, quatro genótipos apresentaram respostas negativas e um não foi afetado quando comparado ao controle não

¹ Mestranda em Bioengenharia, Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ),

² Graduanda em Ciências Biológicas, Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM),

³ Eng. Agrôn., DSc., Pesquisadora em Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo,

⁴ Químico, DSc., Analista da Embrapa Milho e Sorgo,

⁵ Bióloga, DSc., Pesquisadora em Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo,

⁶ Eng. Agrôn., DSc., Pesquisadora em Genética da Embrapa Milho e Sorgo,

⁷ Eng. Agrôn., DSc., Pesquisador em Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo,

⁸ Bióloga, DSc., Pesquisadora em Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, *Autora correspondente

inoculado. Ao analisar a resposta dos genótipos às duas bactérias, verificou-se que nos tratamentos inoculados com a cepa B116 houve um aumento predominante de raízes superfinais, enquanto naqueles inoculados com a B119 foi observado um aumento de raízes finas. Além disso, os híbridos duplos e triplos apresentaram maior efeito positivo após a inoculação com a cepa B116 em comparação com a B119. Assim, foi possível verificar que a resposta à inoculação com microrganismos depende do genótipo de milho e da cepa utilizada.

Termos para indexação: *Bacillus*, genótipo, hidroponia, sistema radicular, *Zea mays*.

Differential Response of Maize Genotypes to Inoculation with Plant Growth Promoting Bacteria

Abstract – Plant growth promoting bacteria (PGPB) can enhance maize growth and is a great promise for sustainable crop productivity. However, several parameters can influence the plant-microorganism interaction, including bacterial strains and maize genotype. The aim of this work was to evaluate the effect of two *Bacillus* strains, isolated from phosphorus efficient maize lines, in different maize genotypes. Twenty maize genotypes from Embrapa Milho e Sorgo Breeding Program and one commercial genotype were inoculated with the two strains (B116 and B119) from the *Bacillus* genus and cultivated in hydroponics. Ten days after inoculation, several root and dry weight traits were evaluated in maize seedlings. Of the 21 maize genotypes inoculated with B116 and B119, sixteen genotypes showed an increase in dry weight and modifications in root morphology, while four genotypes showed negative responses and one was not affected when compared to the non-inoculated control. When analyzing the genotypes response to both bacteria, it was verified that in the treatments with B116 there was a predominant increase of superfine roots, whereas for the B119 an increase of fine roots was observed. Moreover, the double and triple hybrids showed a stronger effect with the inoculation with B116 compared to B119. Thus, it was possible to infer that the plant response was dependent of the plant background and the inoculated strain.

Index terms: *Bacillus*, genotype, hydroponics, root system, *Zea mays*.

Introdução

O milho está entre os cereais mais produzidos, consumidos e exportados no mundo por causa da sua ampla utilização na alimentação humana e animal, e em indústrias de alta tecnologia (FAO, 2019). No entanto, diversos fatores bióticos e abióticos têm ocasionado a redução da sua produtividade. Uma alternativa para mitigar os efeitos dos diferentes tipos de estresses na agricultura consiste na utilização de insumos biológicos visando a proteção de plantas e potencialização da produtividade com menor impacto ao meio ambiente e, eventualmente, com menores custos. Dentre os insumos biológicos mais utilizados estão os inoculantes microbianos. Um inoculante microbiano é caracterizado como um produto que contém uma ou mais cepas de microrganismos que atuam no desenvolvimento das plantas, incluindo bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs). Os inoculantes microbianos têm sido cada vez mais utilizados na cultura do milho, por serem uma alternativa de baixo impacto ambiental, que levam à maior produtividade com melhor custo-benefício do que o uso isolado de fertilizantes químicos.

As BPCPs são capazes de estimular o crescimento e o desenvolvimento das plantas em diferentes estágios de seu ciclo de vida. Bactérias do gênero *Bacillus* são promissoras candidatas para serem usadas como inoculantes microbianos em razão da sua capacidade em reduzir ou eliminar os efeitos nocivos do estresse salino, hídrico e oxidativo, regular as características morfofisiológicas e bioquímicas das plantas e promover o seu crescimento e desenvolvimento (Ghyselinck et al., 2013; Pinter et al., 2017; Tiwari et al., 2019).

As características moduladas pelas BPCPs diferem de acordo com a interação com as diferentes espécies e genótipos inoculados (Araújo et al., 2013; de Araujo et al., 2013; Alves et al., 2015; Amaral et al., 2016). Por exemplo, de vinte genótipos de *Brachypodium distachyon* inoculados *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, foi observada uma resposta positiva ao crescimento em apenas quatro genótipos cultivados sob nenhum nitrogênio e três genótipos testados sob baixo nitrogênio (Amaral et al., 2016). Já em casa de vegetação, de 35 genótipos de milho inoculados com *H. seropedicae*, apenas nove híbridos apresentaram aumento de massa seca e acúmulo de N com a inoculação, indicando que o genótipo da planta desempenha um papel muito importante na determinação da resposta

da planta à inoculação de BPCP (de Araujo et al., 2013). Dessa forma, é importante quantificar a resposta à inoculação com BPCPs em diferentes genótipos de milho, visando à correta recomendação agrônômica.

O trabalho “Resposta diferencial de genótipos de milho à inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas” mostrou que as cepas têm potencial para serem utilizadas como inoculantes microbianos para promoção de crescimento de plantas de milho, sendo a magnitude da resposta dependente do genótipo da planta e da cepa utilizada. O trabalho está alinhado ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável nº 12 “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e Métodos

Cepas de bactérias promotoras de crescimento de plantas

Foram selecionadas duas cepas de *Bacillus*, B116 e B119, previamente isoladas da rizosfera de milho tropical eficiente na utilização de fósforo (Oliveira et al., 2009), e conservadas na Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo. Essas cepas já haviam sido caracterizadas *in vitro* como solubilizadoras de fosfato (Oliveira et al., 2009), produtoras de auxinas e promotoras de crescimento de plantas (Sousa et al., 2018).

Para a preparação do inóculo, as cepas foram inoculadas em meio de cultura TSB e crescidas a 30 °C com agitação de 120 rpm por três dias. Após o período de incubação, as culturas foram centrifugadas por 10 minutos a 8.000 rpm. A suspensão bacteriana foi ajustada à absorbância de aproximadamente 1,0 em comprimento de onda de 540 nm, com a finalidade de obter-se aproximadamente 10^8 unidades formadoras de colônias (UFC) mL⁻¹. Posteriormente as células foram ressuspensas em solução salina 0,85% (m/v), obtendo-se a concentração final de 10^7 UFC mL⁻¹.

Crescimento das plântulas de milho inoculadas com cepas bacterianas em solução nutritiva

Sementes de milho do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo e um genótipo comercial (Tabela 1) foram tratadas superficialmente com hipoclorito de sódio 0,5% (v/v) por cinco minutos sob agitação (150 rpm), lavadas e embebidas durante quatro horas em água deionizada e germinadas em rolos de papel de germinação. Após três dias, plântulas uniformes foram transplantadas para um sistema composto por bandejas com oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força, pH 5,65 (Liu et al., 1998) e mantidas em aclimação por sete dias. Após a aclimação, as raízes das plântulas foram imersas em suspensão bacteriana (10^7 UFC mL⁻¹) por 6 h à temperatura ambiente, com agitação manual a cada hora a fim de aumentar o contato das raízes com as bactérias. Após o período de incubação, o excesso de inóculo foi descartado e as plântulas foram transferidas para solução nutritiva Hoagland meia força, pH 5,65, por mais dez dias, sendo a solução nutritiva trocada a cada três dias. Dez dias após a inoculação, o sistema radicular foi separado da parte aérea, fotografado com uma câmera digital (Nikon D300S SRL) e analisado com os softwares RootReader 2D e WinRhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec Canadá), sendo quantificadas as características de (C) comprimento radicular total (cm); (D) diâmetro médio da raiz (mm); (AS) área de superfície radicular total (cm²); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (raízes superfinais); (AS2) 1 e 2 mm (raízes finas); (AS3) maior do que 2 mm (raízes grossas) (Sousa et al., 2012). As raízes e a parte aérea das plantas foram mantidas separadamente em estufa a 65 °C até atingirem peso constante, para determinação do peso seco de raízes (PSR) e da parte aérea (PSPA), que compuseram o peso seco total (PST). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições, com cinco plantas cada.

Tabela 1. Genótipos de milho utilizados para avaliação da resposta à inoculação com microrganismos promotores de crescimento de plantas em condições de hidroponia

Classificação	Genótipos	Tipo
Híbridos comerciais	DKB390	Híbrido Simples
	BRS1055	Híbrido Simples
	BRS1010	Híbrido Simples
	BRS1030	Híbrido Simples
	BRS1040	Híbrido Simples
	BRS3046	Híbrido Triplo
	BRS3042	Híbrido Triplo
	BRS2022	Híbrido Duplo
	BRS3035	Híbrido Triplo
	BRS1060	Híbrido Simples
Híbridos experimentais	1M1752	Híbrido Simples
	1N1958	Híbrido Simples
	1N1906	Híbrido Simples
	1O2112	Híbrido Simples
	1O2073	Híbrido Simples
	1O2008	Híbrido Simples
	1O2018	Híbrido Simples
	1P2224	Híbrido Simples
	1P2227	Híbrido Simples
	1O2106	Híbrido Simples
Linhagem	L521236	Linhagem

Análises estatísticas

O ajuste do modelo fixo (Eq. 1) foi realizado com a função `lm` do pacote básico do software estatístico R (<https://www.r-project.org/>) e para as médias e comparações de médias marginais estimadas (EMMs), utilizou-se o pacote `emmeans` (Lenth, 2019) do mesmo software.

$$y_{ijkt} = \mu + E_j + T_t + G_i + GT_{it} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

Onde, y_{ijkt} é o fenótipo do indivíduo i ($i = 1 \dots 21$), no experimento j ($j = 1, 2, 3, 4$), de k repetições ($k = 1, 2, 3$) e t tratamentos ($t = 1, 2, 3$); μ é a média geral; E_j é o efeito fixo do experimento j ; T_t é o efeito fixo do tratamento t ; G_i é o efeito fixo do genótipo i ; GT_{it} é o efeito fixo da interação entre genótipos e tratamentos; e ε_{ijk} é o erro experimental, para o qual assumiu-se distribuição normal com média zero e variância σ_e^2 .

Todas as diferenças entre as médias ajustadas dos tratamentos foram comparadas para cada característica utilizando o teste de Tukey com nível de significância 5% do pacote emmeans (Lenth, 2019). Além disso, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) relacionando à classificação dos genótipos de milho (linhagem, híbridos simples, duplos e triplos) com as diferentes inoculações utilizando o pacote pcaMethods (Stacklies et al., 2007) do software R.

Resultados e Discussão

Neste trabalho, diversos genótipos de milho foram inoculados separadamente com as cepas de *Bacillus* B116 e B119, previamente caracterizadas como promotoras de crescimento de plantas na linhagem de milho L521236, em condições de hidroponia (Sousa et al., 2018). O sistema hidropônico é um método rápido e eficaz para a análise da morfologia radicular (Sousa et al., 2012) e para a triagem de BPCPs no estágio de plântulas antes de experimentos em campo, os quais são mais trabalhosos e demandam maior tempo.

Neste trabalho, a análise do efeito isolado das variáveis indicou que para a fonte de variação Genótipos houve diferença significativa, a 5% de probabilidade, para todas as características avaliadas, enquanto que para o efeito de Cepa não foi detectada diferença significativa para as características de diâmetro médio e raízes grossas. A interação Genótipos x Cepa foi significativa para todas as características a pelo menos 1% de significância (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para características radiculares e peso seco de genótipos de milho inoculados separadamente com duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119).

FV	GL	Quadrado Médio								
		C	AS	D	AS1	AS2	AS3	PSPA	PSR	PST
Experimento	3	1717415***	158060***	0,0405***	39243***	11240***	3985***	0,320***	0,0166***	0,472***
Cepa	2	85143***	9875***	0,0002	981*	2420***	197	0,021***	0,0004*	0,027***
Genótipos	20	751283***	67913***	0,0475***	13986***	4444***	3795***	0,086***	0,0037***	0,123***
Cepa x Genótipos	40	40113***	3280***	0,0048**	883***	559***	328***	0,006***	0,0005***	0,010***
Resíduo	150	11731	1143	0,0026	221	215	120	0,002**	0,0001	0,003
Total	215									
Média		1024	329	1,04	124	108	63	0,39	0,09	0,48
CV (%)		11	10	5	12	14	17	12	12	12

*Significativo a 5%, ** 1% e *** 0,01% de probabilidade pelo teste de Tukey. (FV) Fator de variação, (GL) grau de liberdade, (CV) coeficiente de variação, (C) comprimento radicular total (cm); (AS) área de superfície radicular total (cm²); (D) diâmetro médio da raiz (mm); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm; (AS2) 1 e 2 mm e (AS3) maior do que 2 mm, (PSPA) peso seco da parte aérea, (PSR) peso seco da raiz e (PST) peso total.

Houve interação significativa entre genótipos de milho e inoculação das plântulas com *Bacillus* em todas as características radiculares e de peso seco de raízes e peso seco total, sendo que 16 das 21 cultivares responderam positivamente à inoculação, quatro negativamente, e para o genótipo BRS1060 não houve diferença estatística significativa. Além disso, para os genótipos responsivos à inoculação, houve respostas distintas em relação à cepa utilizada (Figura 1). O genótipo comercial DKB390 apresentou resposta negativa em ambas as inoculações, com redução em todos os parâmetros avaliados. Ao contrário do que foi observado, este genótipo apresentou aumento da matéria seca após inoculação com *H. seropedicae* em casa de vegetação (de Araujo et al., 2013). A bactéria *H. seropedicae* também foi capaz de aumentar a produtividade dos genótipos BRS1010, BRS1030 e BRS1060 quando comparados ao tratamento sem inoculação (Araújo et al., 2013b; Breda et al., 2016).

Houve aumento significativo do comprimento e da área superficial total das raízes em nove genótipos de milho, enquanto em apenas três genótipos houve redução dessas características quando inoculados com as cepas de *Bacillus*. Por outro lado, em apenas três genótipos verificou-se aumento significativo do diâmetro médio das raízes, já que houve predominância na formação de raízes superfinais e finas em relação às raízes grossas. Além disso, em relação à biomassa do milho, notou-se o aumento significativo no peso seco da parte aérea e total de seis genótipos, e no peso seco da raiz de sete genótipos de milho. Contudo, verificou-se redução significativa do peso seco da parte aérea e total em apenas três genótipos, e em apenas quatro genótipos quando a característica avaliada foi peso seco da raiz.

Os genótipos comerciais BRS1040 e BRS1010 foram os mais responsivos à inoculação com ambas as bactérias, sendo que o BRS1040, quando inoculado com a cepa B119, aumentou em mais de 55% o comprimento, área superficial total das raízes e área superficial das raízes superfinais, finas e grossas. Além disso, o genótipo BRS1040 inoculado com a B119 apresentou aumento superior a 70% da biomassa da parte aérea, da raiz e total, quando comparado com o controle não inoculado. Esse mesmo genótipo, quando inoculado com a cepa B116, aumentou em cerca de 30% seu comprimento total, área de superfície total e raízes superfinais, em 18% as raízes finas e em 44% as raízes grossas. Em relação à biomassa total, de raízes e da parte aérea, houve um aumento em torno de 35% para esse tratamento em

comparação com controle sem inoculação. Uma maior área de superfície radicular, estimulada pela BPCP nos estágios iniciais do desenvolvimento das plantas, promove uma absorção mais eficiente de nutrientes e o crescimento das plantas. Portanto, o alto custo metabólico para a expansão da raiz nos estágios iniciais de desenvolvimento (Lynch; Brown, 2012) pode levar a um maior crescimento da parte aérea após o estabelecimento da planta, o que compensaria o custo inicial da associação planta-bactéria.

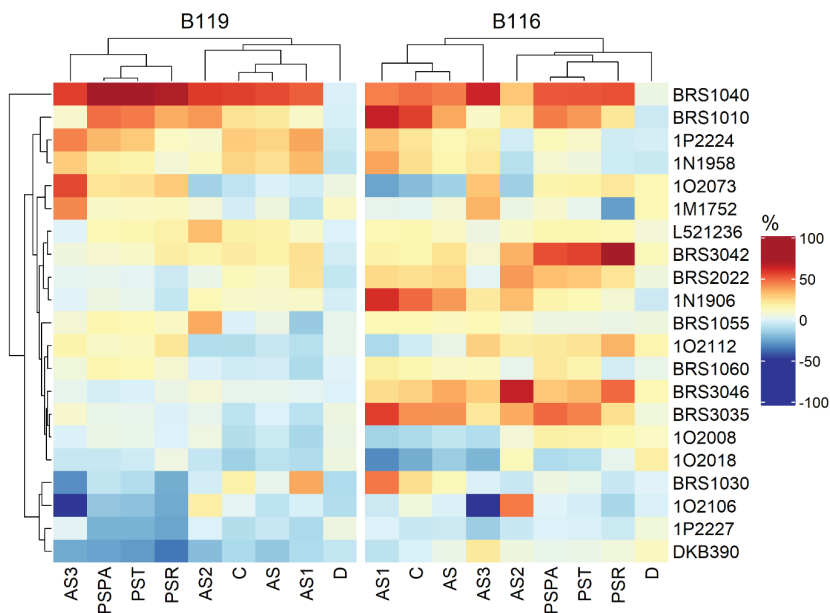


Figura 1. Mapa de calor da relação entre genótipos de milho não inoculados e inoculados com as cepas do gênero *Bacillus* B116 e B119. (C) comprimento radicular total (cm); (AS) área de superfície radicular total (cm²); (D) diâmetro médio radicular (mm); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (cm²); (AS2) 1 e 2 mm (cm²) e (AS3) maior do que 2 mm (cm²), (PSPA) peso seco da parte aérea (g), (PSR) da raiz (g) e (PST) total (g).

Por outro lado, quando o genótipo de milho BRS3042 foi inoculado com a cepa B116, teve aumento de 37% do peso seco da parte aérea e 53% do peso seco da raiz. Entretanto, quando esse mesmo genótipo de milho foi inoculado com a cepa B119, não houve diferença significativa para essas características quando comparado com o controle não inoculado, demonstrando as diferentes respostas dos genótipos à cepa inoculada.

Ao analisar os genótipos responsivos às duas bactérias, verificou-se que no tratamento com a cepa de *Bacillus* B116 houve um aumento predominante das raízes superfina, enquanto para a cepa B119 observou-se um aumento das raízes finas. Além disso, notou-se que os híbridos duplos e triplos responderam melhor à inoculação com a B116 em relação à B119 (Figura 1 e 2). A análise de componentes principais (PCA) explicou 86,41%, 83,97% e 88,03% da variação total pelos dois primeiros componentes para o tratamento sem inoculação, com inoculação da B116 e B119, respectivamente (Figura 2, Tabela 3). Observou-se a formação de três grupos distintos e bem definidos no tratamento sem inoculação: híbridos simples, híbridos duplos e triplos, e a linhagem. De forma geral, verificou-se alteração da morfologia radicular e do peso seco com a inoculação de ambas as cepas de *Bacillus*.

Os híbridos simples, resultantes do cruzamento entre duas linhagens puras, possuem maior potencial produtivo quando as condições ambientais são otimizadas e apresentam maior uniformidade morfofisiológica entre os indivíduos de suas populações em comparação com os híbridos duplos e triplos. Contudo, essa uniformidade genética pode ser desfavorável em condições de estresses bióticos ou abióticos. Da mesma forma, os híbridos triplos, obtidos a partir do cruzamento entre uma linhagem pura e um híbrido simples, são mais uniformes do que os híbridos duplos e possuem potencial produtivo intermediário entre os híbridos simples e duplos. Já os híbridos duplos, provenientes do cruzamento entre dois híbridos simples, possuem maior variabilidade genética, que resulta em maior estabilidade perante adversidades bióticas e abióticas (Cruz; Pereira Filho, 2006; Cargnelutti Filho et al., 2011). No presente trabalho, os híbridos simples apresentaram maiores valores para peso seco, áreas superficiais e comprimento de raízes em comparação aos híbridos triplos e duplos (Figura 2). Híbridos simples também apresentaram melhores respostas em relação à massa seca quando inoculados com *H. seropedicae* em comparação com os híbridos duplos e triplos (Araújo et al., 2013b). As BPCPs podem ser uma alternativa para

aumentar a tolerância desse tipo de híbrido a estresses bióticos e abióticos, tornando-os além de produtivos, mais adaptados a diferentes condições ambientais. Por outro lado, os híbridos duplos e triplos, responderam melhor à inoculação com a B116 em relação a B119, indicando que genótipos com maior variabilidade genética, como os híbridos duplos e triplos, têm menor especificidade na interação planta-bactéria (Araújo et al., 2013b). Além disso, observou-se aumento de peso seco superior a 70% em genótipos responsivos à inoculação com a cepa B119. De forma geral, a cepa B119 induziu uma resposta significativa e específica no que se refere à interação com genótipos de milho, em comparação a B116, que induziu uma resposta mais ampla. A promoção do crescimento das plantas no ambiente não é impulsionada por uma única espécie de bactéria, por isso a escolha de bactérias com diferentes capacidades de promoção do crescimento, com o objetivo de fornecer um consórcio que possa ser aplicado para vários fins, torna-se importante (Dias et al., 2009). Dessa forma, sugere-se uma coinoculação das cepas B116 e B119 a fim de ampliar o espectro de atuação destas bactérias.

Respostas distintas à inoculação em diferentes genótipos de uma mesma cultura com BPCPs são comumente relatadas na literatura (Montanez et al., 2012; Vargas et al., 2012; Araújo et al., 2014; Alves et al., 2015, 2016; Pankievicz et al., 2015; Rodríguez-Blanco et al., 2015; Kazi et al., 2016; Salem et al., 2018). Por exemplo, 27 genótipos de milho respondem de forma diferente à inoculação de *Azospirillum brasilense* quando cultivados em diferentes níveis de nitrogênio, em que as linhagens L7 e L8 são as mais responsivas em relação à eficiência da inoculação de *A. brasilense* Ab-V5, enquanto a linhagem L16 é a menos responsiva (Zeffa et al., 2019). Da mesma forma, sete cepas bacterianas pertencentes ao gênero *Bacillus* quando inoculadas em três cultivares de trigo induziram respostas contrastantes em relação à promoção de crescimento (Chanway et al., 1988). O estabelecimento da associação planta-BPCPs envolve mecanismos complexos. Nesse sentido, o *background* genético da planta hospedeira e das bactérias desempenha um papel crucial na regulação dessa associação (Vidotti et al., 2019). A quantidade e composição das substâncias liberadas nos exsudatos de genótipos de plantas podem variar, assim como a indução de genes relacionados aos mecanismos de defesa da planta, afetando diretamente as respostas à inoculação (Zamioudis; Pieterse, 2012; Chagas et al., 2018).

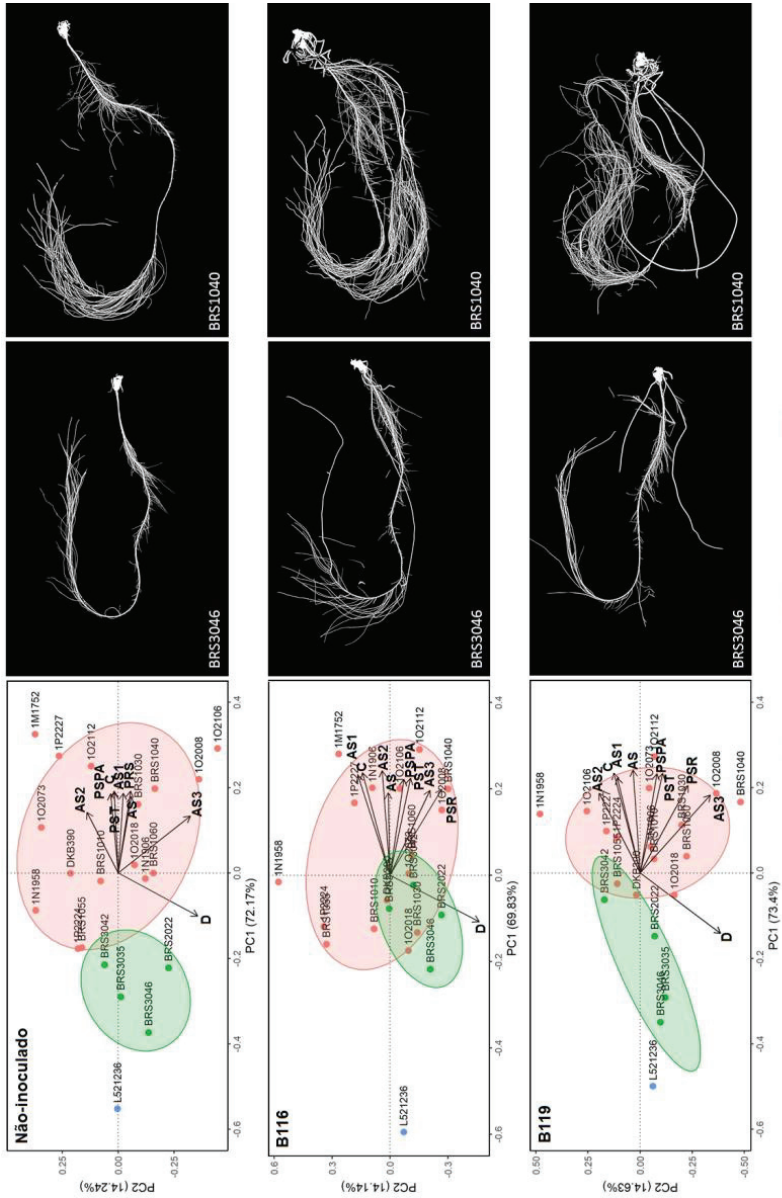


Figura 2. Análise de componentes principais das características radiculares e peso seco de 21 genótipos de milho inoculados com as cepas de *Bacillus* B116 e B119 e controle não inoculado. Nas imagens das raízes estão representados o híbrido triplo BRS3046 e o híbrido simples BRS1040.

Tabela 3. Componentes principais (PC) obtidos para todas as características radiculares e de peso seco avaliadas em 21 genótipos de milho não inoculados e inoculados com as cepas de *Bacillus* B116 e B119.

Características	Controle não inoculado		B116		B119	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Comprimento (C)	0,3812	0,0856	0,3837	0,1449	0,3627	0,2180
Área Superficial (AS)	0,3827	-0,0628	0,3885	-0,0068	0,3767	0,0700
Diâmetro médio (D)	-0,1613	-0,6099	-0,2274	-0,8259	-0,1999	-0,5831
Área de Superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (AS1)	0,3764	-0,0078	0,3654	0,1875	0,3488	0,1850
Área de Superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (AS2)	0,2755	0,3669	0,3087	-0,0876	0,2907	0,3408
Área de Superfície de raízes com diâmetro maior do que 2 mm (AS1)	0,2828	-0,6816	0,2850	-0,2966	0,2925	-0,5246
Peso Seco de Parte Aérea (PSPA)	0,3590	0,0540	0,3553	-0,1016	0,3684	-0,1119
Peso Seco de Raiz (PSR)	0,3486	-0,1180	0,2975	-0,3652	0,3451	-0,3791
Peso Seco Total (PST)	0,3665	0,0255	0,3540	-0,1494	0,3743	-0,1604

O melhoramento de plantas, especificamente do milho, raramente tem como alvo as características de interação com microrganismos (Bertholdsson, 2004; Kiers et al., 2007), ao contrário do que aconteceu com a soja (Wissuwa et al., 2009; Hungria; Mendes, 2015). Historicamente, o melhoramento de milho foi conduzido sob altas condições de fertilização, uma vez que ocorreu concomitantemente com o uso de fertilizantes químicos para aumentar os rendimentos agrícolas (Duvick, 2005; Sinclair; Rufty, 2012; Woli et al., 2016; Faheed et al., 2016). Na medida em que a utilização de insumos, tais como fertilizantes e defensivos agrícolas, aumenta, as funções da planta referentes a absorção de nutrientes e a defesa contra patógenos podem ser subjugadas. Dessa maneira, essas alterações podem atuar como seleção

natural nas interações entre as plantas e os microrganismos presentes no solo (Drinkwater; Snapp, 2007; Wissuwa et al., 2009; Hungria; Mendes, 2015). Em cana-de-açúcar, por exemplo, foi observada uma maior resposta à inoculação com bactérias diazotróficas sob baixa fertilidade de nitrogênio em comparação com a alta fertilidade de nitrogênio (Santos et al., 2019). A variabilidade nas respostas positivas ou negativas dos genótipos de milho em relação à inoculação com diferentes bactérias também pode ser porque genótipos específicos reconhecem em BPCPs padrões de moléculas reconhecidas pelas células do sistema imune vegetal como sinal de invasão por um grupo de agentes patogênicos (Doornbos et al., 2012). Neste sentido, plantas de arroz e milho inoculadas com *H. seropedicae* SmR1 ou *A. brasilense* FP2 induzem a expressão de genes relacionados à defesa de plantas (Brusamarello-Santos et al., 2012; Walker et al., 2012; Amaral et al., 2014; Camilios-Neto et al., 2014).

A avaliação da capacidade de resposta do milho às BPCPs é trabalhosa e demorada, sendo que o uso de abordagens genômicas, como a predição genômica, podem trazer benefícios nessas situações. A predição genômica tem sido implementada em programas de melhoramento de milho e é objeto de estudo de vários autores (Crossa et al., 2017; Lyra et al., 2017; Sousa et al., 2017). Além disso, alguns estudos recentes nos programas de melhoramento genético têm sido propostos para melhorar a interação de plantas com microrganismos do solo (Gopal; Gupta, 2016; Kroll et al., 2017; Wei; Jousset, 2017). Em uma população de 114 linhagens de trigo duplo-haploides (*Triticum aestivum* L.), derivadas do cruzamento entre dois genitores contrastantes em termos de adesão radicular de *A. brasilense*, foram identificados seis locus de características quantitativas (QTLs) responsáveis por 23,1% da variação fenotípica dessa característica. Dentre eles, um QTL de maior efeito foi responsável por 8,6% desta variação (Díaz De León et al., 2015). Sendo assim, diferenças na identidade genética das plantas - em espécie, variedade ou nível de cultivar - podem ser um importante fator para o sucesso da interação positiva com BPCP. A identificação de genes/QTLs relacionados à interação planta-microrganismo pode fornecer marcadores moleculares passíveis de serem utilizados na seleção assistida para a interação bem-sucedida entre plantas e BPCP.

Modelos genômicos podem fornecer uma melhor compreensão da variação quantitativa da responsividade do milho a BPCPs. Valores de predição que variam de moderados a altos para os modelos propostos indicam uma oportunidade para a seleção genômica de características relacionadas à associação de milho e *A. brasilense* nos estágios iniciais do desenvolvimento da planta (Vidotti et al., 2019). Sendo assim, estudos relacionados à predição genômica podem ser úteis em possíveis estratégias de melhoramento de plantas, a fim de explorar a variabilidade genética entre os genótipos de milho em relação à sua capacidade para permitir a colonização por diferentes cepas de *Bacillus*.

A modulação da morfologia radicular nos estágios iniciais do desenvolvimento do milho promovida pela ação de ambas as cepas de *Bacillus* pode levar a uma maior resistência a estresses abióticos e maior produtividade na fase adulta. Esse remodelamento radicular provavelmente está relacionado com diferentes mecanismos de promoção do crescimento e associação com diferentes genótipos de milho. A cepa B116 induziu maior aumento nas características radiculares e de peso seco em híbridos duplos e triplos em relação à B119, indicando que estes genótipos de milho possuem menor especificidade na interação planta-bactéria. Por outro lado, híbridos simples inoculados com a cepa B119 obtiveram um aumento significativo do peso seco em comparação com os mesmos genótipos de milho inoculados com a cepa B116. Além disso, observou-se um aumento das raízes superfinais em genótipos inoculados com a cepa B116 e das raízes finas em genótipos inoculados com a cepa B119. Esses resultados sugerem que ao avaliar a utilização de bactérias como bioinoculantes para híbridos de milho deve-se considerar a associação entre uma cepa específica e o genótipo. Esses dados indicam que a coinoculação dessas cepas pode fornecer um consórcio bacteriano a ser aplicado para vários fins. De forma geral, ambas as cepas foram capazes de promover o crescimento de 16 dos 21 genótipos de milho, aumentando o peso seco e o comprimento radicular. Portanto, deve-se testar a utilização das BPCPs em diferentes sistemas de cultivo para confirmar sua aplicação biotecnológica como inoculante comercial.

Conclusão

As cepas B116 e B119 têm potencial para serem utilizadas como inoculantes microbianos para promoção de crescimento de plantas de milho, sendo a magnitude da resposta dependente do genótipo da planta e da cepa utilizada.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Gislene Rodrigues Braga Cristeli, pela ajuda na montagem dos experimentos em câmara de crescimento, e a Embrapa, Capes e CNPq, pelo auxílio financeiro.

Referências

- ALVES, G. C.; MATOS, M. A. V. de; REIS, F. B. dos; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Plant growth promotion by four species of the genus *Burkholderia*. **Plant and Soil**, v. 399, n. 1/2, p. 373-387, 2016.
- ALVES, G. C.; VIDEIRA, S. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, v. 387, n. 1/2, p. 307-321, 2015.
- AMARAL, F. P.; BUENO, J. C. F.; HERMES, V. S.; ARISI, A. C. M. Gene expression analysis of maize seedlings (DKB240 variety) inoculated with plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. **Symbiosis**, v. 62, n. 1, p. 41-50, 2014.
- AMARAL, F. P.; PANKIEVICZ, V. C.; ARISI, A. C. M.; SOUZA, E. M. de; PEDROSA, F.; STACEY, G. Differential growth responses of *Brachypodium distachyon* genotypes to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 689-697, 2016.
- ARAÚJO, A. E. da S.; BALDANI, V. L. D.; GALISA, P. de S.; PEREIRA, J. A.; BALDANI, J. I. Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 49-55, 2013a.

ARAÚJO, F. F. de; FOLONI, J. S. S.; WUTZKE, M.; MELEGARI, A. D. S.; RACK, E. Híbridos e variedades de milho submetidos à inoculação de sementes com *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1043-1053, 2013b.

ARAÚJO, E. O.; MARTINS, M. R.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T.; URQUIAGA, S. S. *Herbaspirillum seropedicae* inoculation and nitrogen fertilization on nitrogen use efficiency of different maize genotypes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 40, p. 3025-3031, 2014.

BERTHOLDSSON, N.-O. Variation in allelopathic activity over 100 years of barley selection and breeding. **Weed Research**, v. 44, n. 2, p. 78-86, 2004.

BREDA, F. D. F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 45-52, 2016.

BRUSAMARELLO-SANTOS, L. C. C.; PACHECO, F.; ALJANABI, S. M. M.; MONTEIRO, R. A.; CRUZ, L. M.; BAURA, V. A.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M.; WASSEM, R. Differential gene expression of rice roots inoculated with the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1/2, p. 113-125, 2012.

CAMILIOS-NETO, D.; BONATO, P.; WASSEM, R.; TADRA-SFEIR, M. Z.; BRUSAMARELLO-SANTOS, L. C.; VALDAMERI, G.; DONATTI, L.; FAORO, H.; WEISS, V. A.; CHUBATSU, L. S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M. Dual RNA-seq transcriptional analysis of wheat roots colonized by *Azospirillum brasilense* reveals up-regulation of nutrient acquisition and cell cycle genes. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 378, 2014.

CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, M.; BURIN, C.; CASAROTTO, G.; LÚCIO, A. D. C. Métodos de estimativa do tamanho ótimo de parcelas experimentais de híbridos de milho simples, triplo e duplo. **Ciência Rural**, v. 41, n. 9, p. 1509-1516, 2011.

CHAGAS, F. O.; PESSOTTI, R. C.; CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M.; PUPO, M. T. Chemical signaling involved in plant-microbe interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 5, p. 1652-1704, 2018.

CHANWAY, C. P.; NELSON, L. M.; HOLL, F. B. Cultivar-specific growth promotion of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) by coexistent *Bacillus* species. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 7, p. 925-929, 1988.

CROSSA, J.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; CUEVAS, J.; MONTESINOS-LÓPEZ, O.; JARQUÍN, D.; DE LOS CAMPOS, G.; BURGUEÑO, J.; GONZÁLEZ-CAMACHO, J. M.; PÉREZ-ELIZALDE, S.; BEYENE, Y.; DREISIGACKER, S.; SINGH, R.; ZHANG, X.; GOWDA, M.; ROORKIWAL, M.; RUTKOSKI, J.; VARSHNEY, R. K. Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 11, p. 961-975, 2017.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A. **Cuidados na escolha da cultivar de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 133).

DIAS, A. C.; COSTA, F. E.; ANDREOTE, F. D.; LACAVA, P. T.; TEIXEIRA, M. A.; ASSUMPÇÃO, L. C.; ARAÚJO, W. L.; AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 189-195, 2009.

DÍAZ DE LEÓN, J. L.; CASTELLANOS, T.; LING, J.; ROJAS-HERNÁNDEZ, A.; RÖDER, M.S. Quantitative trait loci underlying the adhesion of *Azospirillum brasilense* cells to wheat roots. **Euphytica**, v. 204, n. 1, p. 81-90, 2015.

DOORNBOS, R. F.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 227-243, 2012.

DRINKWATER, L. E.; SNAPP, S. S. Understanding and managing the rhizosphere in agroecosystems. In: CARDON, Z.; WHITBECK, J. (Ed.). **The rhizosphere: an ecological perspective**. London: Academic Press, 2007. p. 127-153.

DUVICK, D. N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). **Advances in agronomy**, v. 86, p. 83-145, 2005.

FAHEED, F.; MOHAMED, E.; MAHMOUD, H. Improvement of maize crop yield (*Zea mays* L.) by using of nitrogen fertilization and foliar spray of some

activators. **Journal of Ecology of Health & Environment**, v. 4, n. 1, p. 33-47, 2016.

FAO. **FAOSTAT**: FAO Statistical Databases. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 20 set. 2019.

GHYSELINCK, J.; VELIVELLI, S. L. S.; HEYLEN, K.; O'HERLIHY, E.; FRANCO, J.; ROJAS, M.; DE VOS, P.; PRESTWICH, B. D. Bioprospecting in potato fields in the Central Andean Highlands: screening of rhizobacteria for plant growth-promoting properties. **Systematic and applied microbiology**, v. 36, n. 2, p. 116-127, 2013.

GOPAL, M.; GUPTA, A. Microbiome selection could spur next-generation plant breeding strategies. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1971, 2016.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: BRUIJN, F. J. de (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. p. 1005-1019.

KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETHOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, p. 368-378, 2016.

KIERS, E. T.; HUTTON, M. G.; DENISON, R. F. Human selection and the relaxation of legume defenses against ineffective rhizobia. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1629, p. 3119-3126, 2007.

KROLL, S.; AGLER, M. T.; KEMEN, E. Genomic dissection of host-microbe and microbe-microbe interactions for advanced plant breeding. **Current opinion in plant biology**, v. 36, p. 71-78, 2017.

LENTH, R. **EMMs**: Estimated Marginal Means: aka Least-Squares Means: R package version 1.3.4. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/emmeans.pdf>>. Acesso em: 6 abr. 2019.

LIU, C.; MUCHHAL, U. S.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A. K.; RAGHOTHAMA, K. G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. **Plant Physiology**, v. 116, n. 1, p. 91-99, 1998.

LYNCH, J. P.; BROWN, K. M. New roots for agriculture: exploiting the root phenome. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1595, p. 1598-1604, 2012.

LYRA, D. H.; FREITAS, M. L. de; GALLI, G.; ALVES, F. C.; GRANATO, I. S. C.; FRITSCHÉ-NETO, R. Multi-trait genomic prediction for nitrogen response indices in tropical maize hybrids. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 6, article 80, 2017.

MONTANEZ, A.; BLANCO, A. R.; BARLOCCO, C.; BERACOCHEA, M.; SICARDI, M. Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects in vitro. **Applied Soil Ecology**, v. 58, p. 21-28, 2012.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; SA, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 1782-1787, 2009.

PANKIEVICZ, V. C.; AMARAL, F. P. do; SANTOS, K. F.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; STACEY, G. Robust biological nitrogen fixation in a model grass–bacterial association. **The Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 907-919, 2015.

PINTER, I. F.; SALOMON, M. V.; BERLI, F.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. Characterization of the As (III) tolerance conferred by plant growth promoting rhizobacteria to in vitro-grown grapevine. **Applied Soil Ecology**, v. 109, p. 60-68, 2017.

RODRÍGUEZ-BLANCO, A.; SICARDI, M.; FRIONI, L. Plant genotype and nitrogen fertilization effects on abundance and diversity of diazotrophic bacteria associated with maize (*Zea mays* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 3, p. 391-402, 2015.

SALEM, G.; STROMBERGER, M. E.; BYRNE, P. F.; MANTER, D. K.; EL-FEKI, W.; WEIR, T. L. Genotype-specific response of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to irrigation and inoculation with ACC deaminase bacteria. **Rhizosphere**, v. 8, p. 1-7, 2018.

SANTOS, S. G. dos; SILVA, R. F. da; ALVES, G. C.; SANTOS, L. A.; REIS, V. M. Inoculation with five diazotrophs alters nitrogen metabolism during the initial growth of sugarcane varieties with contrasting responses to added nitrogen. **Plant and Soil**, p. 1-20, 2019.

SINCLAIR, T. R.; RUFTY, T. W. Nitrogen and water resources commonly limit crop yield increases, not necessarily plant genetics. **Global Food Security**, v. 1, n. 2, p. 94-98, 2012.

SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

SOUSA, M. B.; CUEVAS, J.; COUTO, E. G. DE O.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; JARQUÍN, D.; FRITSCHÉ-NETO, R.; BURGUEÑO, J.; CROSSA, J. Genomic-enabled prediction in maize using kernel models with genotype×environment interaction. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 7, n. 6, p. 1995-2014, 2017.

SOUSA, S. M. de; PAIVA, C. A. O.; ANDRADE, D. L.; CARVALHO, C.; PALHARES, V.; PASTINA, M. M.; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G. P.; GOMES, E. A. **Cepas de *Bacillus* e *Azospirillum* aumentam o crescimento e a absorção de nutrientes em milho em condições hidropônicas**. Sete Lagoas: Embrapa, 2018. 31 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 184).

STACKLIES, W.; REDESTIG, H.; SCHOLZ, M.; WALTHER, D.; SELBIG, J. pcaMethods: a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. **Bioinformatics**, v. 23, n. 9, p. 1164-1167, 2007.

TIWARI, S.; PRASAD, V.; LATA, C. *Bacillus*: plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In: GUPTA, V. K. (Ed.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 43-55.

VARGAS, L.; CARVALHO, T. L. G. de; FERREIRA, P. C. G.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; HERMERLY, A. Early responses of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings to inoculation with beneficial diazotrophic bacteria are dependent on plant and bacterial genotypes. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1/2, p. 127-137, 2012.

VIDOTTI, M. S.; MATIAS, F. I.; ALVES, F. C.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; BELTRAN, G. A.; BURGUEÑO, J.; CROSSA, J.; FRITSCHÉ-NETO, R. Maize responsiveness to *Azospirillum brasilense*: Insights into genetic control, heterosis and genomic prediction. **PloS One**, v. 14, n. 6, p. e0217571, 2019.

WALKER, V.; COUILLEROT, O.; VON, F. A.; BELLVERT, F.; JANSÁ, J.; MAURHOFER, M.; BALLY, R.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; COMTE, G. Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under field conditions. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1/2, p. 151-163, 2012.

WEI, Z.; JOUSSET, A. Plant breeding goes microbial. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 7, p. 555-558, 2017.

WISSUWA, M.; MAZZOLA, M.; PICARD, C. Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1/2, p. 409-430, 2009.

WOLI, K. P.; BOYER, M. J.; ELMORE, R. W.; SAWYER, J. E.; ABENDROTH, L. J.; BARKER, D. W. Corn era hybrid response to nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 2, p. 473-486, 2016.

ZAMIOUDIS, C.; PIETERSE, C. M. J. Modulation of host immunity by beneficial microbes. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 2, p. 139-150, 2012.

ZEFFA, D. M.; PERINI, L. J.; SILVA, M. B.; SOUSA, N. V. de; SCAPIM, C. A.; OLIVEIRA, A. L. M. de; GONÇALVES, L. S. A. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. **PloS One**, v. 14, n. 4, p. e0215332, 2019.

Embrapa

Milho e Sorgo



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL